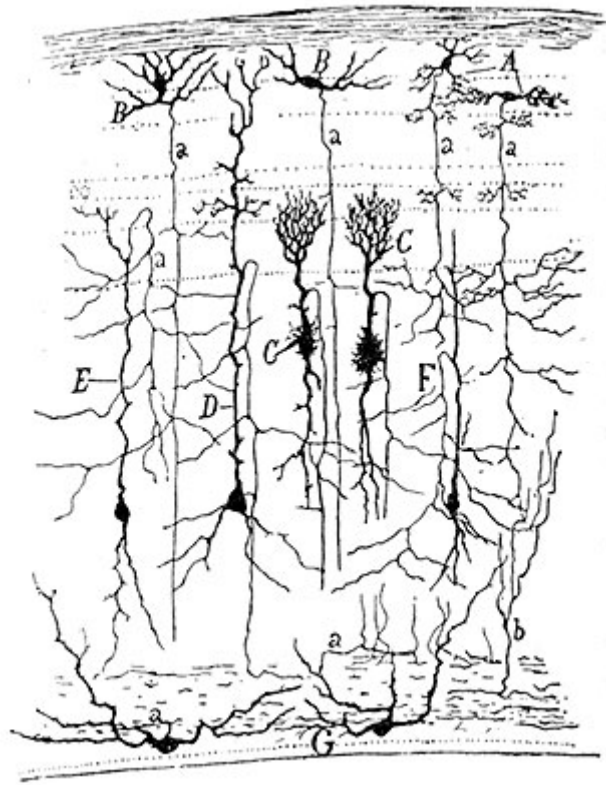


Prosjektoppgave på profesjonsstudiet i medisin, 11. semester.
Ved Universitet i Oslo
02.03.2007
av Ole Jacob Majorsæter Tangen

Modellering av Aksonet



Abstract

Electrical signalling in the brain connects over 10^{10} neurons. Thin unmyelinated axons are important as the grey substance in the cortex depend on these. Because they are so thin, however, they have been difficult to study with traditional intracellular recording techniques. A lot of knowledge about thin unmyelinated axons is derived from the studies of larger axons, but the differences in morphology, and therefore probably also function, is significant. This will certainly affect propagation of the action potential through the axon. In this student project I will look at how a neuron is modelled with topological and biophysical properties. I will introduce some mathematics used in electrophysiology. That is mathematics mainly from cable theory and the Hodgkin and Huxley equations. With this background I will build a simple neuron with a long, thin axon for a simulation of action potentials. This is done with a multi-compartmental model. Simulations in computer programs like NEURON can give new insights and also redirect research on real neurons. The simulations can also help interpret results from some new measurement techniques of real neurons such as the measurement of a terminal 'bleb' made in response to the slicing procedure of the axon. The overall aim is to improve the knowledge we have of the nervous system.

Innledning

Mennesket har mer enn 10^{10} celler i hjernen. Disse er koblet sammen og fungerer som et nettverk. Et av nevrovitenskapens hovedmål er å forklare hvordan hjernens nerveceller signaliserer og hvordan dette kan resultere i bevegelser og vår oppfatning av virkeligheten. Gjennom elektrofysiologiske målinger har man funnet ut noe om hvordan denne signaliseringen foregår. Tynne umyeliniserte aksoner, derimot, er relativt uutforsket da de er for tynne for direkte elektrofysiologiske målinger. De er svært viktige i signaloverføringen, da all grå substans i hjernebarken stort sett har tynne umyeliniserte aksoner. Kunnskap om aksonene kan ikke nødvendigvis overføres fra kunnskap om tykkere aksoner da mange forhold er ulike. Disse forhold vil ha innvirkning på aksjonspotensialet. For eksempel har disse aksonene synapser langs hele sin lengde, i motsetning til våre perifere motoriske aksoner med synapser kun i enden. Tidligere var det antatt at aksonene kun var passive kabler som videreførte signaler uten den minste forstyrrelse og med den største korrekthet. Informasjonsbehandlingen trodde man fant sted kun i dendrittene og soma. Så enkelt har det vist seg å ikke være. Det er tydelig at flere faktorer kan regulere aksjonspotensialet. Hvilke faktorer er viktige for aksonet og hvilke er ikke? Formen på aksjonspotensialet har også vist seg å ha betydning for synapsenes styrke. For å utforske disse tingene må man forsøke å måle spenningen i de tynne aksonene. Ny metodikk må taes i bruk. Det er forsøkt å registrere intracellulær spenning fra en blære som dannes i enden av aksonene når de kuttes. (Shu Y. et al. 2006). Deretter kan man sammenligne resultatene med resultater fra simuleringer gjort i modeller basert på tidligere data, slik som jeg gjør i denne oppgaven.

Forsidebildet tatt fra: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/0/09/SparrowTectum.jpg>
Drawing of a section through the optic tectum of a sparrow. By Santiago Ramon y Cajal, c.1900

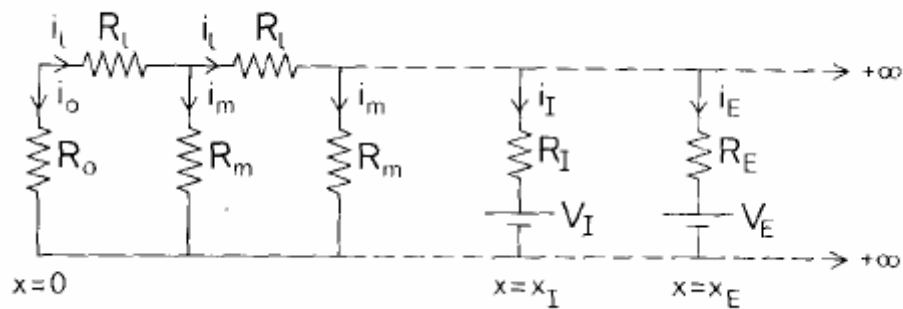
Modeller av nevroner og nettverk blir stadig mer sofistikert. Skillet mellom virkelige nevroner og kunstige modeller blir mer og mer utvisket ettersom kunnskapen øker. Simuleringene i denne studentoppgaven er designet for å studere hvordan aksjonspotensialet oppfører seg utover i aksonet, og hvordan disse forandringene avhenger av visse variable. Dette

- 1) kan hjelpe til å tolke resultater fra den nye måleteknikken med et avkuttet akson,
- 2) kan hjelpe oss å tippe hvordan aksjonspotensialet oppfører seg i de tynne, umyeliniserte aksonene ved at vi integrerer fragmenter av kunnskap om aksoner og aksjonspotensialer inn i en modell, og
- 3) kan hjelpe oss til å fokusere på de viktigste spørsmålene som bør besvares ved biologiske forsøk på virkelige aksoner.

For å gjøre dette trenger man først en del bakgrunnskunnskap om enkle elektrofysiologiske prinsipper. Jeg vil i oppgaven først redegjøre for hvordan aksonet kan betraktes som en elektrisk kabel. Deretter se på hva som gjør aksonet mer komplisert enn dette og dermed til et mindre forutsigbart, biologisk system. Med denne kunnskapen kan vi forstå elementene som må med i en relativt naturtro modell og dessuten de nødvendige prioriteringene av de ulike elementene i en slik modell. Dette leder til simuleringen av en såkalt kompartmentalisert modell i et dataprogram kalt NEURON.

Kabel likningen

En nervecelle er bygd opp av en kropp, soma. Til denne sendes impulser fra sidegrener, dendritter. Dersom disse signalene ved summasjon når en terskelverdi vil det sendes et signal gjennom aksonet. Aksonet viderefører signalet over lengre avstander til andre nerveceller. Signalet er elektrisk. Det var Luigi Galvani som først oppdaget at biologisk vev kunne lede strøm da han så at et ben på en død frosk beveget seg når han stimulerte nervus ischiadicus med elektrisitet. Han krediteres for å ha sett sammenhengen mellom elektrisitet og animasjon eller liv. Et akson har mange egenskaper som en elektrisk kabel. Teori bak undersjøiske telefonkabler mellom Amerika og Europa ble brukt til å beregne strømledning gjennom et akson. Man kan tenke seg aksonet som sylinderformet med en omkrets på $2\pi a$, hvor a er radius. Inne i sylindren er det en ledende væske kalt aksoplasma. Veggen er en cellemembran. Cellemembranen er et bilag av fosfolipider. Den fungerer som en kapasitator. Den er ingen perfekt insulator for den lekker strøm til omgivelsene. Strømmen kan flyte enten i væsken i aksonet eller den kan lekkе ut i omgivelsene. Når elektrisk strøm går i en kabel vil den følge Ohms lov: $I=V/R$. Hvor I er spenning, V er strøm og R er motstand. Den elektriske strøm vil møte motstand i cytoplasmaet så vel som i lekkasjen i membranen. Aksonet kan tenkes bestående av segmenter med kapasitans og motstand ordnet parallelt, slik som vist nedenfor.



Motstanden gjennom aksonet r_l kan uttrykkes slik:

$$r_l = \frac{R_l}{\pi a^2}$$

Hvor R_l er aksoplasmaets spesifikke resistivitet multiplisert med lengden av segmentet. Under brøken er tverrsnittet av cylinderen. Motstanden i aksoplasmaet er svært stor til forskjell fra andre elektriske ledere. Desto større tverrsnitt, desto mindre motstand.

Kapasitansen i membranen er proporsjonal til platearealet. C_m er kapasitansen per enhet areal. Dette kan uttrykkes slik:

$$c_m = C_m 2\pi a$$

c_m måles i mikrofaraads per centimeter ($\mu\text{F}/\text{cm}$). Desto større omkrets, desto mer kapasitans.

Motstanden gjennom membranen i hvert segment r_m målt i ohms per centimeter (Ω/cm) kan uttrykkes slik:

$$r_m = \frac{R_m}{2\pi a}$$

Hvor R_m er motstanden mot lekkasje gjennom en arealenhet av membranen. Desto større omkrets desto større areal for strøm å lekke ut og dermed mindre motstand gjennom membranen.

Ut ifra disse forhold kan man sette opp en andreordens partiell differensiallikning som kalles kabel likningen:

$$\frac{1}{r_l} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = c_m \frac{\partial V}{\partial t} + \frac{V}{r_m}$$

Ved å rearrangere likningen ovenfor kan man regne ut to viktige termer for fremdriften av den elektriske puls i kabelen.

Strømmen avtar eksponentielt desto lenger ut i kabelen strømmen kommer pga. motstand, kapasitans og lekkasje. Lengde konstanten λ er et uttrykk for hvor langt strømmen er i stand til å forandre spenningen i den enkelte kabel:

$$\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_l}}$$

Desto større motstand i membranen r_m , desto mer strøm vil fortsette å være inne i cytosol og kunne drive fremover longitudinalt. Derimot vil større motstand i cytosol r_l gjøre det verre for fremdriften av strømmen og den kommer kortere. Dette innebærer at spenningen avtar med $1/e$, d.v.s. med 37 %, ved en lengde konstant. Desto lenger λ er, desto lenger går strømmen. En λ på 1 til 2 mm er typisk for en mammaliansk nerve eller muskel celle.

Tidskonstanten τ uttrykker hvor raskt membranpotensialet i en kabel forandrer seg i forhold til strøm injisert i den:

$$\tau = r_m c_m$$

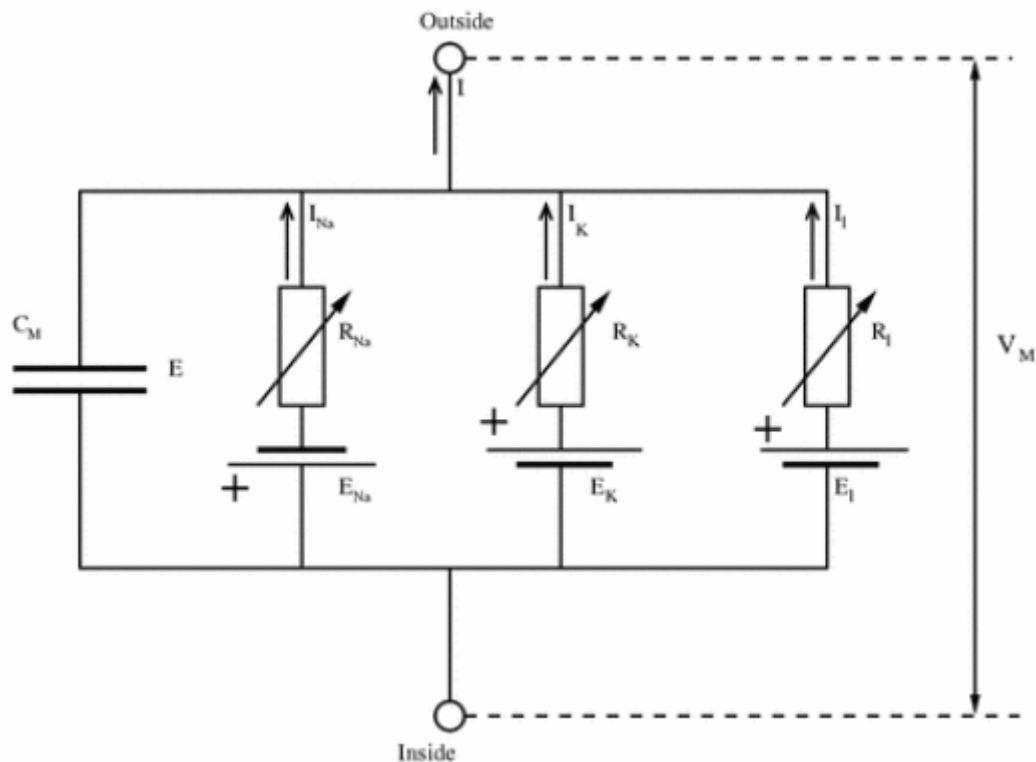
Desto større kapasitansen c_m , desto mer strøm trengs for å lade opp membranen og desto lenger tid tar det. Tidskonstanten varierer fra 1-2 millisekunder hvor informasjonen må gå raskt til 100 ms eller lenger. Det typiske er rundt 20 millisekunder. (Wikipedia: Cable theory).

Kabel likningen med lengde og tidskonstanter:

$$\lambda^2 \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = \tau \frac{\partial V}{\partial t} + V$$

Aktive egenskaper

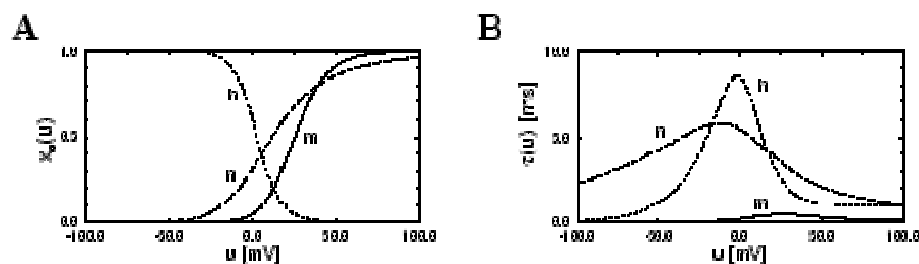
Hittil har det kun vært beskrevet en elektrisk kabel med passiv lekkasje av strøm. En nervecelle er ingen god konduktor slik at spenningen avtar raskt. Til forskjell fra en nervecelle kan en god leder, som metallet sølv, lede strøm med svært liten motstand. Biologien har allikevel utviklet seg til å kunne sende signaler med uforminsket kraft over lange distanser. Dette gjøres ved såkalte aksjonspotensialer. Istedenfor å være en passiv kabel er cellemembranen utstyrt med ionekanaler. Ionekanalene åpner og lukker seg. Dette er beskrevet av nobelprisvinnerne Hodgkin og Huxley i deres berømte eksperimenter med Giant squid axon hos arten *Loligo Palei*. (Hodgkin A.L.&Huxley A.F. 1952). Aksonets størrelse er en evolusjonistisk fordel da det gjør mulig en svært rask tilbaketrekning ved forsvar. Desto større aksonets tverrsnitt er, desto raskere går signalet. På grunn av den store størrelsen av aksonet var det mulig for Hodgkin og Huxley å gjøre forsøk på den. Ved en rekke forsøk kom de i 1952 frem til en matematisk formel for ionestrømmen gjennom membranen. Ionekanalene er spenningsstyrt. Ved en viss spenning er det en stor sannsynlighet for at de står åpne. Dette gjør at ioner kan strømme inn og ut av neuritten.



Hodgkin og Huxley fant at den samlede strømmen av ioner over membranen kunne beskrives av tre typer kanaler (vist på figuren ovenfor): Natrium, Kalium og en lekkasje kanal, som i all hovedsak er Klor. For hver kanal er det en viss sannsynlighet for at den står åpen. Lekkasje kanalen er uavhengig av spenning, mens de to andre er avhengig av både spenning og tid. Hvis alle kanaler er åpne så viderefører de strøm med en maksimal konduktans g_{Na} eller g_K , respektivt. Normalt er noen av kanalene blokkert. Sannsynligheten for at en kanal er åpen er beskrevet med variabler m , n , og h . Kombinert kontrollerer m og h Na^+ kanalen. K^+ kanalen er kontrollert av n . Hodgkin og Huxley formulerte dette matematisk slik:

$$\sum_k I_k = g_{Na} m^3 h (u - E_{Na}) + g_K n^4 (u - E_K) + g_L (u - E_L).$$

$\sum_k I_k$ er den totale ionestrøm over membranen. g_{Na} er maksimal mulig Natrium konduktans (omtrent 120 mOhms/cm²). m er sannsynligheten at 1 av de tre nødvendige akiverings partiklene har bidratt til aktiveringen av Natrium kanalen (m^3 er sannsynligheten at alle 3 aktiverings partikler har produsert en åpen kanal). h er sannsynligheten for at den ene inaktiverings partikkelen ikke har årsaket Natrium kanalen til å lukke. u er total membran potensial (omtrent -60 mV). E_{Na} er Natrium membran potensial (omtrent 55mV). g_K er maksimal mulig Kalium konduktans (omtrent 36 mOhms/cm²). n er sannsynligheten for at 1 av 4 aktiverte partikler har påvirket Kalium kanalens tilstand. E_K er Kalium membran potensial (omtrent -72 mV). g_L er maksimal mulig lekkasje konduktans (omtrent 0.3 mOhms/cm²). E_L er lekkasje membran potensial (omtrent -50mV).



Figuren over viser hvordan variablene n , m og h er spenningsstyrte i squid giant axon. (Gerstner W. & Kistler W.M. 2002).

Spenningsstyrte ione kanaler forklarer hvordan en initial depolarisering over membranen kan spre seg uforminsket gjennom et akson. Hvis strøm injiseres og spenningen stiger over membranen vil konduktansen til Na kanalen øke fordi m øker. Da strømmer positive ioner inn og øker membran potensialet enda mer. Hvis spenningen øker nok vil et aksjonspotensial settes i gang.

Hodgkin Huxley likningen er nonlinear og slik svært kompleks. Matematisk betyr nonlinear at den ikke simpelthen er summen av dens deler. Slike system følger ikke prinsippet om superposisjon slik lineære systemer gjør. Dette innebærer at slike system er svært vanskelige å modellere og oppførselen i forhold til for eksempel tid er vanskelig å forutse. Man forsøker derfor å tilnærme seg dem lineært hvis mulig. Noen nonlinear systemer er mulig å løse eller integrere, mens andre er det man kaller kaotiske. (Wikipedia: Nonlinear)

Nå er det også slik at denne modellen gjelder for Squid giant axon og heller ikke her er den fullstendig. På mennesket og andre vertebrater finnes et uttall forskjellige ione kanaler, et ione kanal "pool". Man finner stadig nye kanaler og deres struktur kartlegges. Forskjellige typer celler i hjernen har forskjellige typer ione kanaler. Dette kan åpenbart gjøre dem funksjonelt forskjellige.

Modeller

Nevroner består som sagt av dendritter, soma og et akson. Dette danner en kompleks struktur. Hjerneceller har svært mange dendritter og derfor en svært komplisert spatiell struktur. De er dendrittiske tre med stadige bifurkasjoner. (Vetter P. et al. 2001). Aksonene forgrener seg også sterkt i enden. Ved slike bifurkasjoner møter aksjonspotensialet utfordringer. En plutselig økt diameter vil ha store konsekvenser. Aksjonspotensialet forsterkes eller forsvinner alt ettersom forholdene forandrer seg. "Backpropagation" vil også virke inn.

Dessuten er ingen deler av geometrien i hver enkel del eller gren homogene. De har en svært varierende diameter og lengde innad. Varikositeter på aksonet, det vil si synapser, er svært tallrike. (Sheperd G.M. & Raastad M. 2003). Synapsenes plassering på aksonet er viktig da det avgjør påvirkningen av aksjonspotensialet. Ionekanalene er heller ikke uniformt fordelt. Dessuten finnes det svært mange typer ione kanaler. Det er tydelig at for å kunne gjøre

beregninger på informasjonsbehandlingen i en hjernecelle må det gjøres forenklinger. Kunnskapen akkumuleres stadig, men matematikken blir likevel for komplisert til å kunne gjøre beregninger. Man må derfor i en modell velge mellom hva som skal være betydningsfullt og hva som kan neglisjeres uten for mye tap av informasjon. Det har vist seg at forskjellige modeller kan forklare forskjellige fenomener observert i virkelige celler og nettverk. (Herz A.V.M. et al. 2006).

I ”Single - compartmental model” neglisjerer man den spatielle strukturen til nevronet. Dette er den klassiske Hodgkin og Huxley modellen. Denne modellen kan fortsatt bidra med nye oppdagelser. Her fokuseres det på hvordan ionekanaler kan føre til ”spikes”, det vil si aksjonspotensialer. Den kan forklare mange dynamiske aspekter ved en nervecelles oppførsel som fasisk ”spiking”, ”bursting”, og ”spike-frekuensi adaptation”. (Herz A.V.M. et al. 2006).

I ”Multi - compartmentalized model” deles nevronet opp i flere kompartenter eller segmenter. Matematisk må man diskretisere kabel likningen. Den spatielle variabelen i den partielle differentiaallikningen diskretiseres slik at man får et stort system med ordinære differensiallikninger for membran potensialet på de valgte diskretiseringspunkt som en funksjon av tid. (Gerstner W. & Kistler W.M. 2002). Det dendritiske tre er delt opp i små sylindriske kompartenter med et tilnærmet uniformt membran potensial. Deretter kan man utstyre hvert kompartent med aktive egenskaper, det vil si nonlinearer ionekanaler. Disse segmenter er koblet sammen via resistorer. Numerisk integrasjon trengs for å løse systemet av likninger. Det er denne modellen programmet NEURON bruker som jeg har benyttet meg av i oppgaven.

Så kan man avgjøre hvor mange slike kompartenter man skal ha. For å representere en realistisk morfologi må man ha svært mange kompartenter. Mer enn 1000 trengs for å avspeile den spesifikke cellens struktur f. eks i pyramidale nevroner. Man kan i slike modeller studere spatielle fenomener. (Herz A.V.M. et al. 2006). F. eks. er det vist at den spatielle struktur til dendrittene kan fungere som en mekanisme for å oppdage bevegelse. Prosessering av elektriske impulser i dendrittene er hele tiden avhengig av den spatielle lokalisering. Dendrittenes summasjon av eksitatoriske og inhibitoriske input kan ikke studeres uavhengig av hvor på dendrittene signalet kommer. Den aksonale geometrien er også viktig når det gjelder ”output”. Et signal kan for eksempel stoppe opp pga. en forgrening. Dersom man skal lage store nettverk av nevroner kan man redusere antall kompartenter for å vedlikeholde en viss effektivitet i databehandlingen.

”Cascade model” er en mer konseptuell modell. Denne baserer seg på matematiske primitiver som lineære filtre, nonlinearer transformasjoner og randomiserte prosesser. (Herz A.V.M. et al. 2006). Man kan også lage modeller uten å vurdere de biofysiske aspektene ved cellen. Nevronet kan betraktes som en svart boks som får signaler inn og som svarer med å sende signaler ut i en strøm av ”spike trains”. Man måler sannsynligheten at respons B forekommer når stimulus A blir presentert. Nervecellen kan altså veksle mellom fyringsmønstre. Den kan

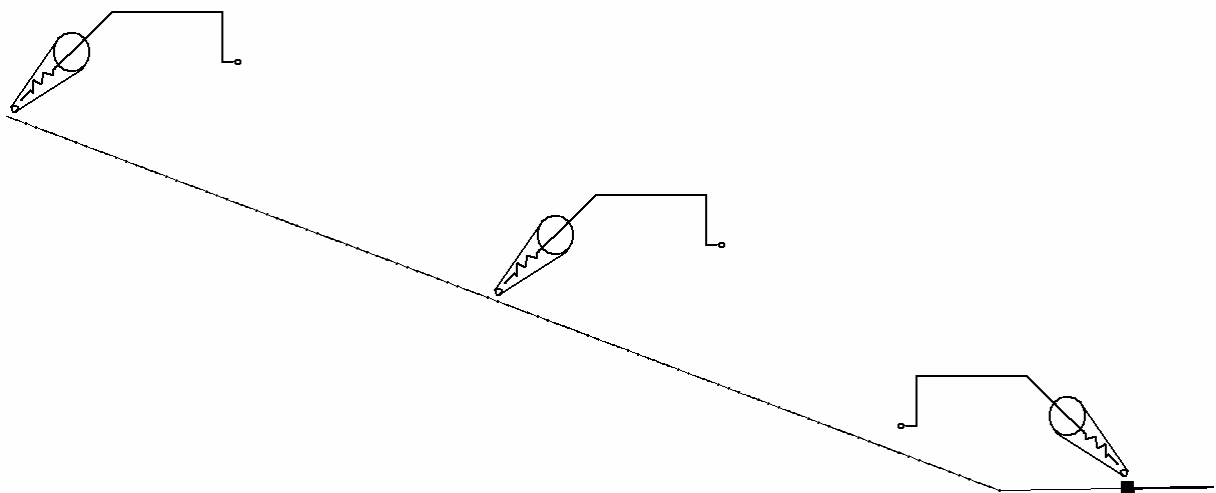
danne skurer av aksjonspotensialer eller "single spikes". Den kan ha en høy fyringsfrekvens eller avstå fra aktivitet på synaptisk påvirkning.

Metode

Simulering

Med dataprogram simuleringer kan man teste modeller opp mot virkelige målinger.

NEURON 5.9 er et slikt program utviklet på Yale universitet. (Hines, M.L. and Carnevale, N.T. 1997). Jeg har brukt dette programmet til å se på propagasjon av aksjonspotensial fra et soma gjennom et akson. Nevronets topologi består av et soma og et akson med 100 segmenter med boutons, synapser, slik de forekommer på et akson. Disse varikositetene vil gjøre noe med aksjonspotensialet. Dette er en "Multi – compartmentalized" modell slik som beskrevet tidligere.



Over sees en illustrasjon av det modellerte nevronet med tre elektroder plassert i henholdsvis soma, den svarte firkanten til høyre, samt midt på og i enden. Langs aksonet sees små forhøyninger som skal være boutons.

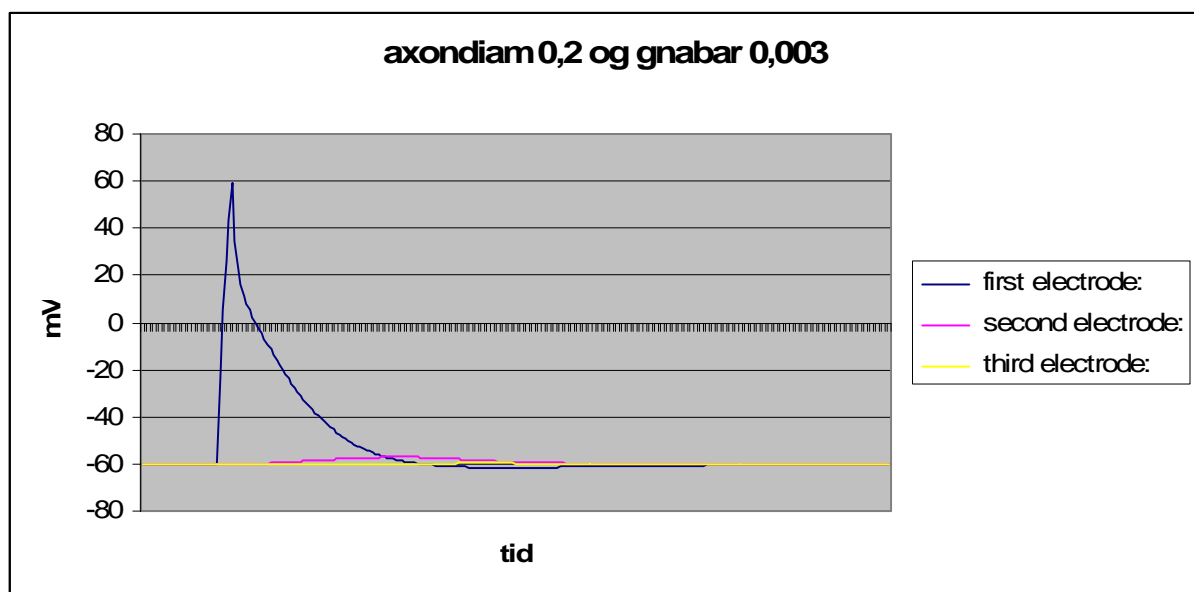
Geometrien på soma ble satt til diameter 10 μm og lengde 10 μm . De 100 boutons har hver for seg en lengde på 1 μm og en diameter på 1 μm . Mellom hver bouton går aksonet som har 100 segmenter og en lengde på 100 μm . Aksondiameter (axondiam) settes til 0,2 μm som utgangspunkt. De biofysiske parametrene ble også satt omtrent til å være de samme som i virkelige forsøk. Membrankapasiteten på hele nevronet ble satt til 1 som er standard for de fleste celler. Membranresistansen ble satt over hele nevronet til 10000 som gir en membran tidskonstant på 1 ms. Membran reversal potensialet ble satt til -60 mV, og membran restpotensialet ble satt til -60 mV. Cytoplasma resistansen ble satt til 100. Det ble satt inn passiv lekkasje over det hele og det ble satt inn Hodgkin Huxley (hh2) kanaler. Natrium

konduktansen (gnabar) ble først satt til 0,003 (mho/cm²) og Kalium konduktansen 0,005 (mho/cm²). Temperaturen ble satt til å være 36 celsius under alle simuleringene.

Strømmen ble simulert injisert i soma, og det ble satt elektroder i soma, midt på aksonet og i enden av det, sistnevnte to i henholdsvis segment 50 og 100. Strømmen som ble injisert varte i 2 ms og styrken var 600 pAmpere. Målingen varte i 100 ms per simulering. På graf 1 nedenfor viser Y-aksen mVolt og X-aksen tid i ms. Den blå grafen, "first electrode", viser målt spenning ved elektrode i soma, den røde, "second electrode", midt på aksonet og den gule, "third electrode", i enden av aksonet. Vi kjørte forsøk med natrium konduktans og aksondiameter som variable for å se hvordan disse virker inn på propagasjonen av aksjonspotensialet.

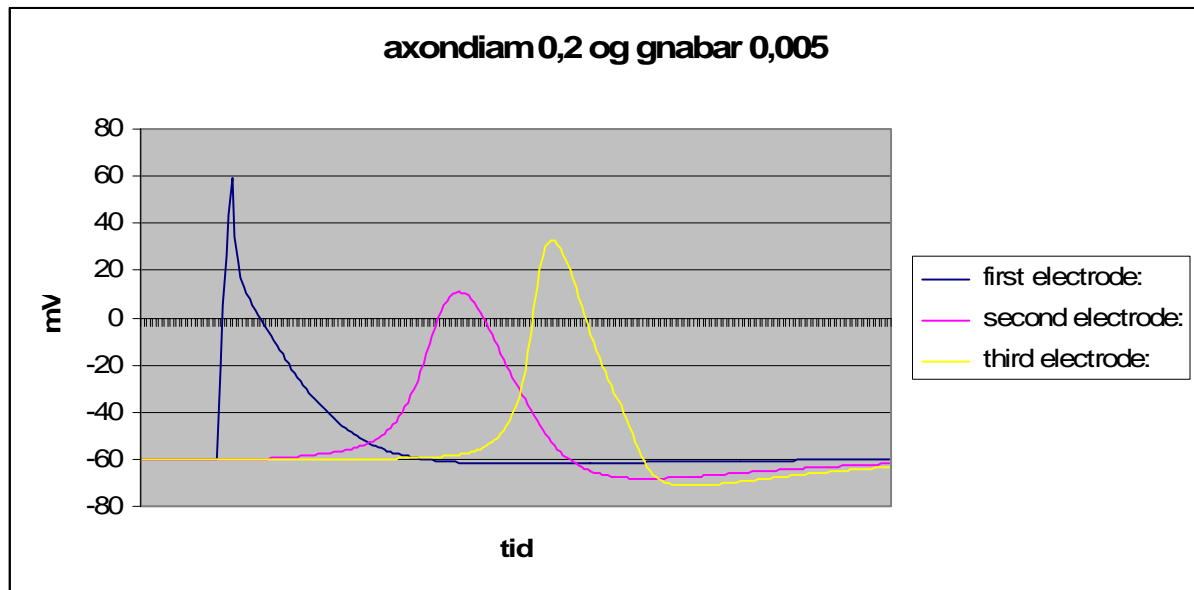
Resultater og tolkninger

Graf 1



Ved aksondiameter 0,2 og natrium konduktans, gnabar, 0,003 ser vi at elektrodene på aksonet ikke registrerer noe aksjonspotensial. Vi ser kun en registrering av den elektriske injeksjonen i soma. Den lange halen, til første elektrode, er en passiv utladning av den ladningen som er injisert i soma. Denne avhenger av C_m og R_m og har tidskonstant (τ). Ingen "aktive" prosesser sees her, med andre ord, ingen spenningsfølsomme ionekanaler aktiveres.

Graf 2

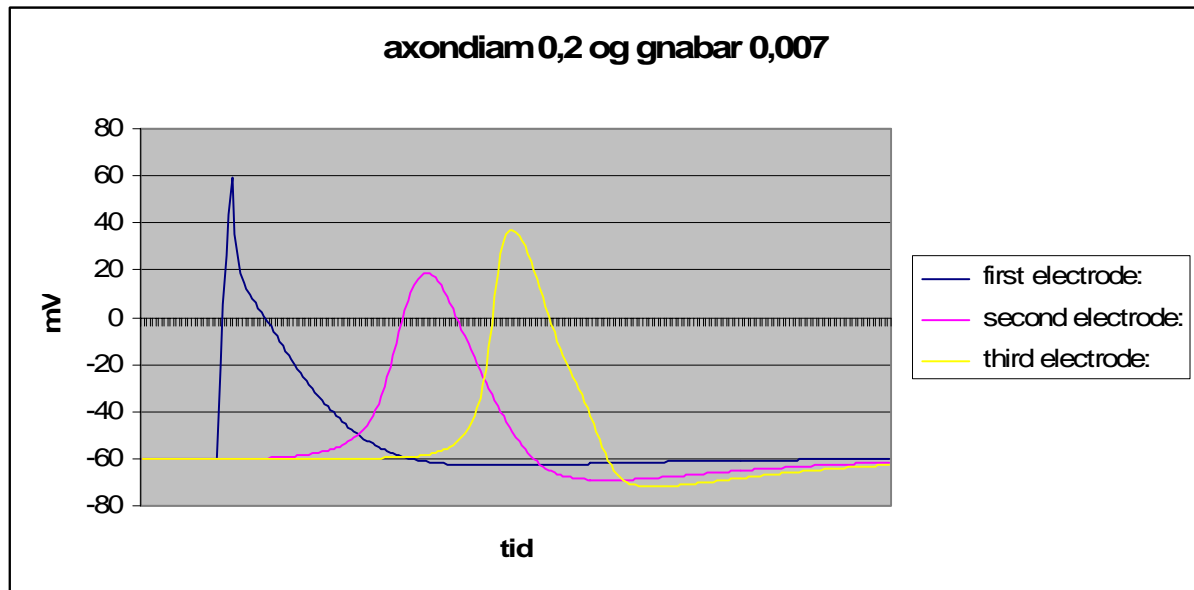


Her, derimot, ved en økning av natrium konduktansen (gnabar) til 0,005, ser vi i at det registreres aksjonspotensial både midtveis i aksonet og i enden av aksonet, ved henholdsvis andre og tredje elektrode. Det dannes ikke noe aksjonspotensial i soma, kun i aksonet. En forklaring kan være at motstanden i aksonet er høyere enn i soma, slik at små strømmer får større spenningsutslag, og dermed aktiveres spenningsfølsomme ione kanaler.

Det er også flere ting å legge merke til her. Vi ser at selv om tredje elektrode sitter dobbelt så langt unna som andre elektrode tar det betydelig kortere tid for aksjonspotensialet å komme fra andre til tredje elektrode enn fra soma til andre elektrode. Dette passer med at amplituden ser ut til å øke utover, og får dermed en raskere depolarisering til terskel. Aksjonspotensialet oppstår altså i aksonet og blir både raskere og sterkere utover i aksonet.

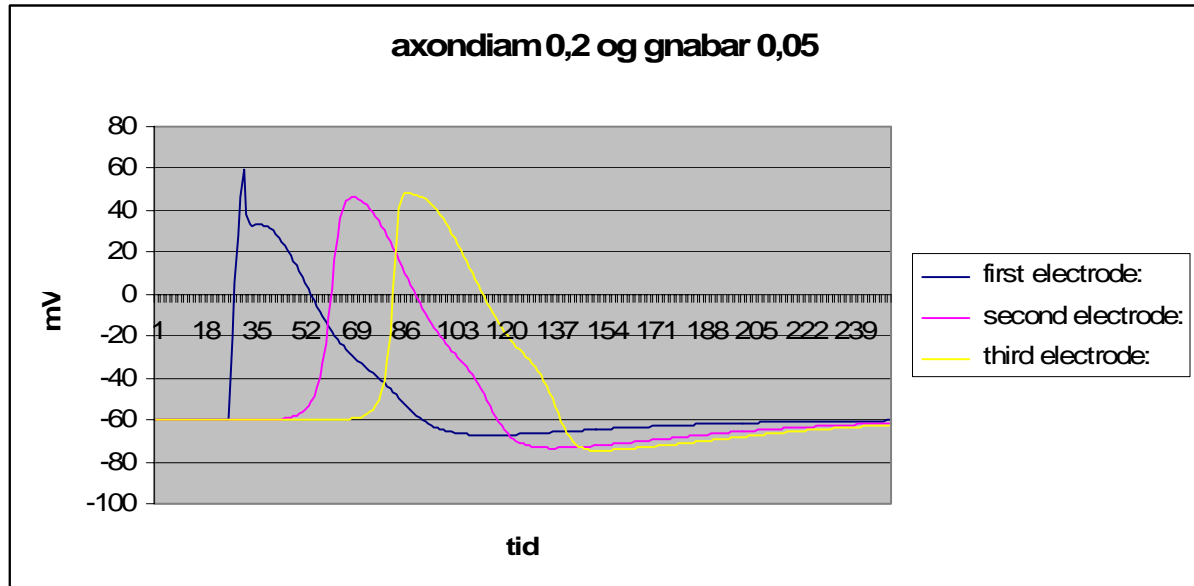
Dessuten er aksjonspotensialet generert i tredje elektrode betraktelig større enn i den andre elektroden. Dette henger antakelig sammen med at aksonet er lukket i enden, dermed vil motstanden være høyere når man kommer nærmere enden. I enden vil ladning bare kunne gå i en retning inne i kabelen, mens det er to retninger å gå i for eksempel midten av kabelen.

Graf 3



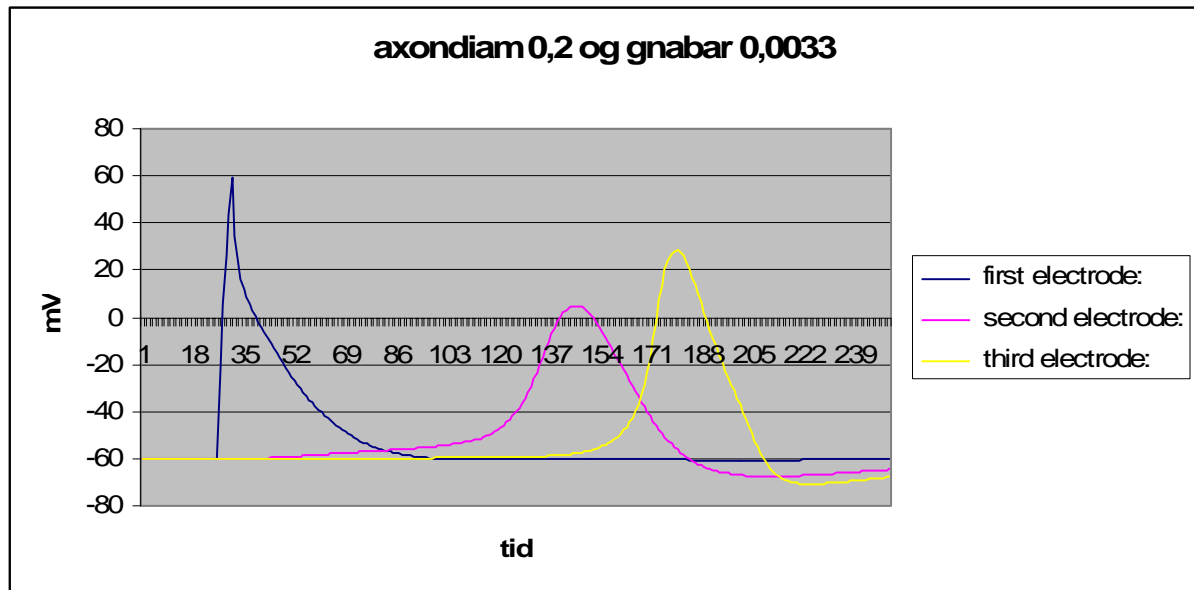
Hvis Natrium konduktansen økes til 0,007 ser vi at ledningstiden blir kortere. Det henger delvis sammen med at amplituden, Y-aksen, eksempelvis ved elektrode 2, blir høyere. Aksjonspotensialene blir sterkere i begge elektroder.

Graf 4



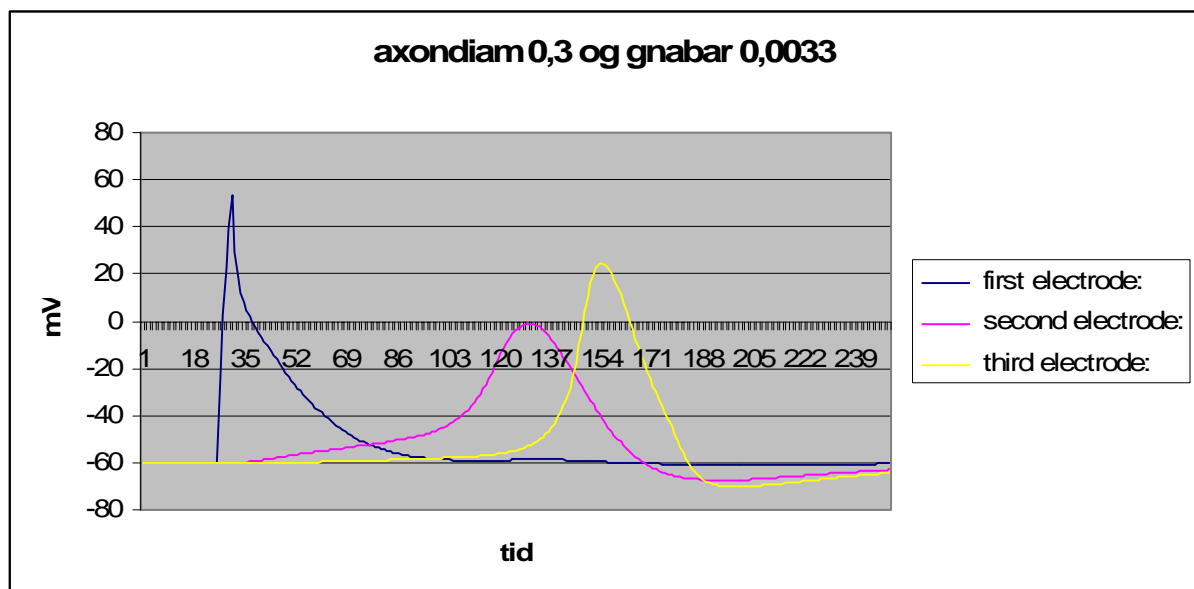
Dersom vi øker natrium konduktansen ytterligere til 0,05 ser vi at ledningstidene har blitt enda kortere. Dessuten er det dannet et aksjonspotensial i soma. Størrelsen på 2. og 3. elektrode er ikke så forskjellig. Dette kan være fordi vi kommer nærmere Natrium sitt likevektspotensial. De får ikke blitt stort større.

Graf 5



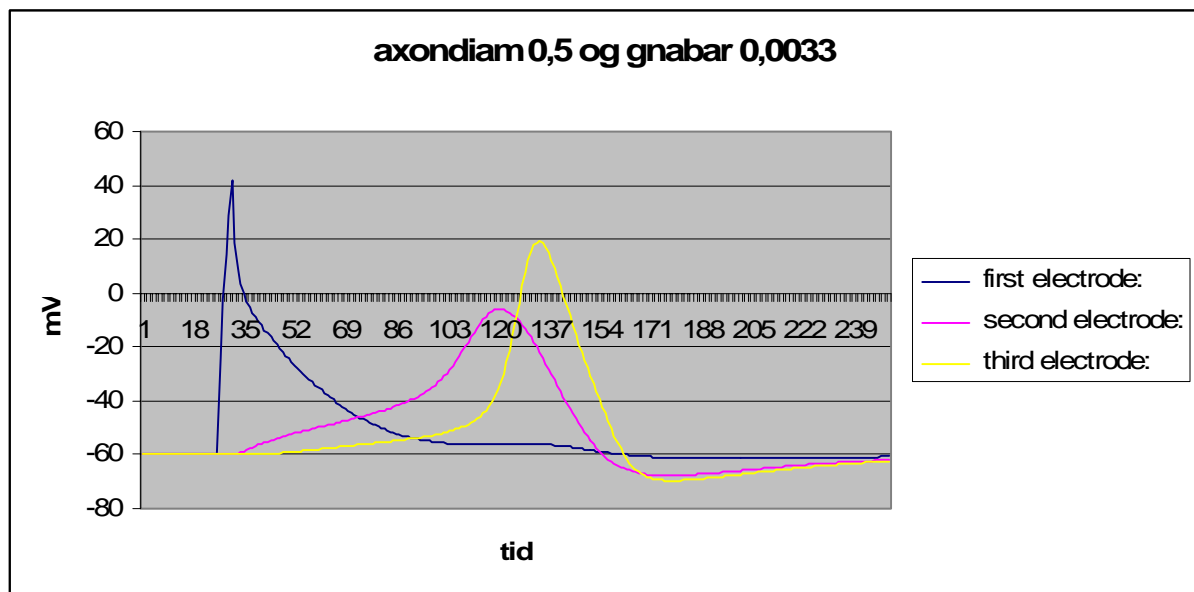
Graf 5-7 er forsøk med aksondiameter som variabel. Natrium konduktansen er satt til minste mulige verdi som aksjonspotensial dannes ved, 0,0033. For å finne denne verdien prøvde vi oss frem med ulike verdiertil aksjonspotensialet oppsto. Vi ser at ledningstiden øker til sammenligning med graf 2. Dette er på grunn av den økte longitudinelle motstand i kabelen som begrenser ladningsspredning.

Graf 6



Hvis vi øker aksondiameter til 0,3 ser vi at ledningstiden forkortes. Den indre longitudinelle motstand går ned. Et økt tverrsnitt gir mindre motstand.

Graf 7



Ved ytterligere økning til 0,5 sees ledningstiden videre forkortet. Økt diameter gir raskere ledningshastighet. Legg merke til at latens fra soma til 2. elektrode er lang. Vi må langt ut i aksonet for å få en motstand som er stor nok til at strømmene skal få bygget opp et tilstrekkelig potensial, men når spenningsfølsomme ionekanaler endelig gjør at "ny ladning" strømmer inn, vil denne ladningen spre seg veldig raskt til enden av aksonet, dermed kort forsinkelse fra 2. til 3. elektrode.

Diskusjon og oppsummering

I dette arbeidet har jeg sett både hvor komplisert det er å måle elektriske signaler i nerveceller, å tolke slike målinger, og dessuten å lage modeller av disse. Begrensninger oppstår på et visst størrelsesnivå. Tynne myeliniserte aksoner har for liten diameter til at det har vært mulig å måle spenning med tradisjonelle intracellulære teknikker. Derfor har man relativt lite kunnskap om dem. Det har vist seg at kunnskap om de tynne myeliniserte aksonene er viktig for å forstå aksjonspotensialets propagasjon fra soma ut til synapser og postsynaptiske nevroner. Dette var utgangspunktet for min prosjektoppgave.

I oppgaven begynte jeg med å se på hvordan aksonet kan betraktes som en elektrisk kabel underlagt kabel teoriens og Hodgkin-Huxley likningens matematikk. Jeg måtte sette meg noe inn i relevant lære om elektrisitet og matematikk og dessuten litt historikk rundt elektrofysiologiens opprinnelse. Hodgkin-Huxley likningens matematikk viser hvordan nonlineære fenomener oppstår i biologien og slik skaper uforutsette fenomener. Helheten er mer enn summen av sine deler. Vi får det som kalles emergente ("emergence") egenskaper og

som gjør biologiske systemer så uforklarlige ut i fra den kunnskap vi har i dag. Hjernen er det mest kompliserte system vi vet om.

Jeg har sett hvordan en datasimulering deler opp nevronet i små deler ("compartments") for å kunne gjøre beregninger med kompliserte likninger. Bak dette ligger mer komplisert matematikk. Dataprogrammet NEURON gjør disse beregningene. Jeg satte meg inn i NEURON. Det krever noe innsats å begynne å beherske et slikt program, men er svært lærerikt og berikende da man får innsikt i dynamikken i dannelsen og propagasjonen av aksjonspotensialer og forhold som regulerer dette. Først må topologien på plass, dvs. hvilke deler et nevron skal ha og størrelsen på disse. Deretter må man bestemme de biofysiske parametre. Endelig kan man kjøre en simulering. Jeg begynte med et enkelt soma som ble stimulert til aksjonspotensialet ved å sette inn aktive Hodgkin-Huxley ione kanaler. Videre kunne jeg legge til et akson og dessuten ane hvordan et nettverk kunne fungere. Det finnes mange modeller tilgjengelig som illustrerer interessante fenomener som f.eks en plutselig diameter økning i et akson. Man har laget databaser med modeller fra ulike celletyper og nettverk i hjernen. I simuleringen i oppgaven ble et nevron modellert basert på deler av kjent morfologi hos aksoner. Vi kjørte simuleringer med natrium konduktans og diameter på aksonet som variable. Dette ble så satt inn i tabeller og resultatene ble tolket. Alt skjedde med hjelp fra min veileder.

NEURON simuleringsprogram benyttes av svært mange i nevrovitenskapelig forskning og er forhåpentligvis pålitelig. Det at flere bruker programmet og tester det empirisk opp mot virkelige nevroner og nevronale nettverk vil gjøre det stadig mer pålitelig for forskning. Kunnskap utveksles mellom forskere over hele verden og hybride nettverk kobles sammen takket være store fremskritt innen informasjonsteknologien samt villighet til å samarbeide. En av utfordringene for nevrovitenskapen blir å sette de ulike modellene av de forskjellige nivåene sammen. Det er tydelig at både forhold ved mikro og makro er viktige, fra nøyaktig lokalisasjon av boutons på aksonene til organisasjonen av store nevronale nettverk som synnsansen hos mennesket. Modellene for disse systemene må på en slags måte inkorporeres i hverandre for å kunne si noe om menneskets hjerne. Dette innebærer en tverrfaglig innfallsvinkel med både matematikere, informatikere, fysikere, kjemikere, biologer, leger, psykologer og filosofer.

Vi fant ved simuleringene flere interessante fenomener som kan være til hjelp i virkelige forsøk med nevroner. Det er for eksempel tydelig at aksjonspotensialet kan oppstå i aksonet og at hastigheten, amplituden og bredden av det vil kunne øke utover i aksonet. Aksjonspotensialet vil derfor kunne frigjøre økende mengde nevrotransmitter ved å indusere en økende mengde Ca^{++} i synapsene utover i aksonet. Den nye metoden med avkuttet akson ved ca. 300 μm og registrering fra en blære i enden er ikke uproblematisk da mange uforutsette forhold gjør seg gjeldende ved nettopp korte avstander i aksonet. Det er tydelig at disse aksonene har svært kompliserte mekanismer som krever mye oppmerksomhet og forskning. De spiller en aktiv rolle i signaloverføringen og er på ingen måte kun passive

ledere av en alt eller intet respons dannet i dendritter og soma. Den forenklingen må forlates. Det er tydelig at diameter og natrium konduktansen påvirker aksjonspotensialet i aksoner i stor grad og at morfologien spiller en betydelig rolle dersom modeller skal gjenspeile virkelighetens nevroner.

Litteraturhenvisninger:

- Brodal P. (2001)
Sentralnervesystemet. 3.utgave. Universitetsforlaget.
- Gerstner W. & Kistler W.M. (2002)
Spiking Neuron Models. Single Neurons, Populations, Plasticity
Cambridge University Press.
- Herz A.V.M, Gollisch T., Machens C.K. & Jaeger D. (2006)
Modeling Single-Neuron Dynamics and Computations: A balance of Detail and
Abstraction. *Science*, 314, 80-85.
- Hines, M.L. and Carnevale, N.T. (1997)
The NEURON Simulation Environment. *Neural Computation*, 9, 1179-1209.
- Hodgkin A.L. and Huxley A.F. (1952)
A Quantitative Descripton of Membrane Current and its Application to Conduction
and Excitation in Nerve. *J. Physiol*, 117, 500-544.
- Joyner R.W., Westerfield M. & Moore J.W. (1980)
Effects of cellular geometry on current flow during a propagated action potential.
Biophysical journal, 31, 183-194.
- Raastad M. & Shepherd G.M. (2003)
Single-axon action potentials in the rat hippocampal cortex.
J Physiol., 548, 745-52.
- Scott A. (1995)
Stairway to the mind: The controversial new science of consciousness. Springer-
Verlag, New York.
- Shepherd G.M. & Raastad M. (2003)
Axonal varicosity distributions along parallel fibers: A new angle on a cerebellar
circuit. *Cerebellum*, 2, 110-113.
- Shu Y, Hasenstaub A, Duque A, Yu Y & McCormick D.A. (2006)

Modulation of intracortical synaptic potentials by presynaptic somatic membrane potential. *Nature*, 441, 761-765.

Sternheim M.M. & Kane J.W.
General Physics, 2nd Edition

Vetter P., Roth A. & Häusser M. (2001)
Propagation of action potential in dendrites depends on dendritic morphology. *Journal of neurophysiology*, 85, 926-937.

Wikipedia:

http://en.wikipedia.org/wiki/Cable_theory

http://en.wikipedia.org/wiki/Hodgkin-Huxley_model

<http://en.wikipedia.org/wiki/Nonlinear>.